



**Karolinska
Institutet**

Biomarkörer vid neuroinflammatoriska tillstånd hos barn

-Vid din sida

Ronny Wickström
Astrid Lindgrens Children's Hospital
Karolinska University Hospital

Biomarkörer

“a characteristic that is objectively measured and evaluated as an indicator of normal biological processes, pathogenic processes, or pharmacologic responses to a therapeutic intervention”

- 1. Diagnostik**
- 2. För att bedöma grad av sjukdom**
- 3. Indikera prognos**
- 4. Prediktion och monitorering av terapi och progress**

Tillgängligheten styr delvis användbarheten

Inflammation är en lokalt inducerad systemisk reaktion

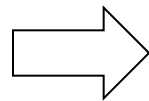
Rubor
Calor
Dolor
Tumor



Antiinflammation

Mekanistisk definition

Invasion av cirkulerande
immunceller
Induktion av
inflammatoriska mediatorer



Akutfassvaret

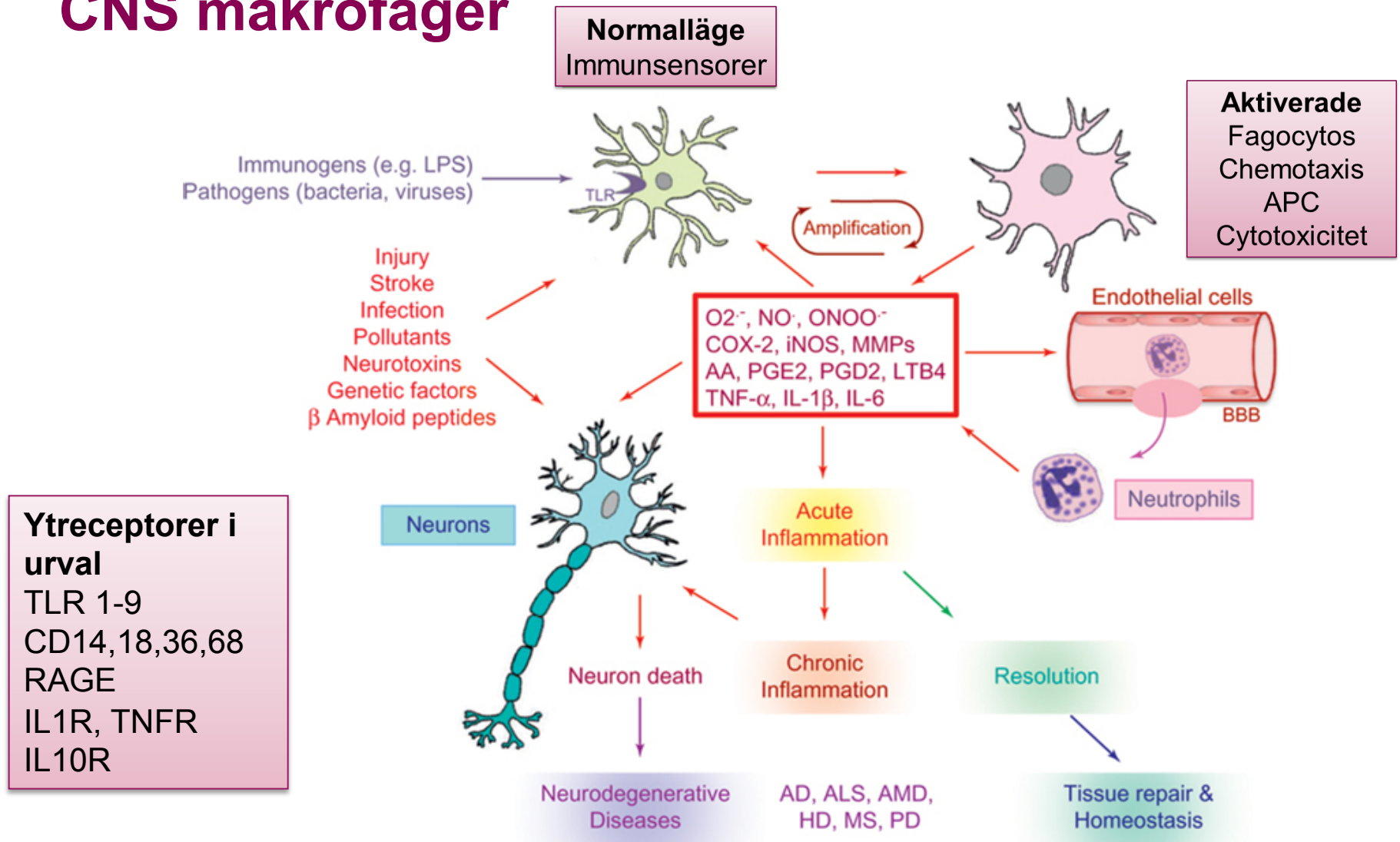
- Leverinduktion
- Aktiverar sympNS
- Kardiovaskulära effekter
- Neuroendokrina effekter
- Beteendepåverkan
- Feber

Astrocyten är del av neuroinflammationen

Modulerar neuronaktivitet,
potentierar synatisk transmission
m.m.

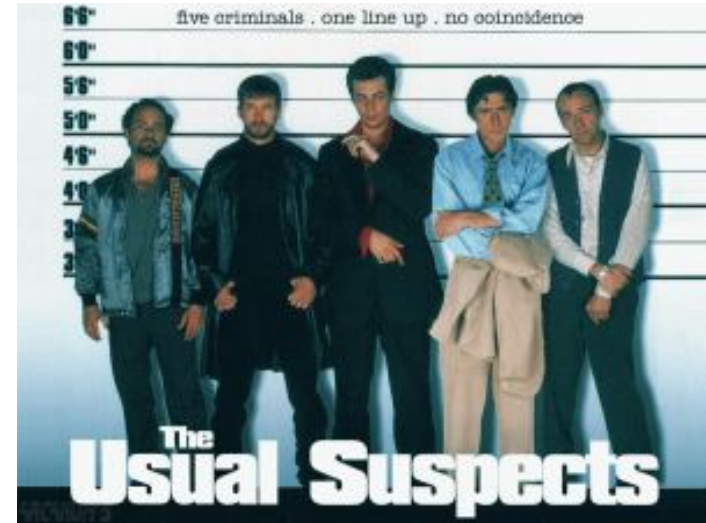
Vid **skada i CNS** förändras astrocyterna
och utsöndrar cytokiner samt aktiverar
komplement vilket ger ärrbildning
(reaktiv astroglios)

Mikroglia är CNS makrofager



Vilka neuroinflammatoriska biomarkörer används i kliniken?

- (Perifera markörer)
- CSF pleocytos
- CSF albumin och IgG-index
- CSF OCB
- MR
- EEG
- Neuronala antikroppar



Våra vanliga CSF-analyser

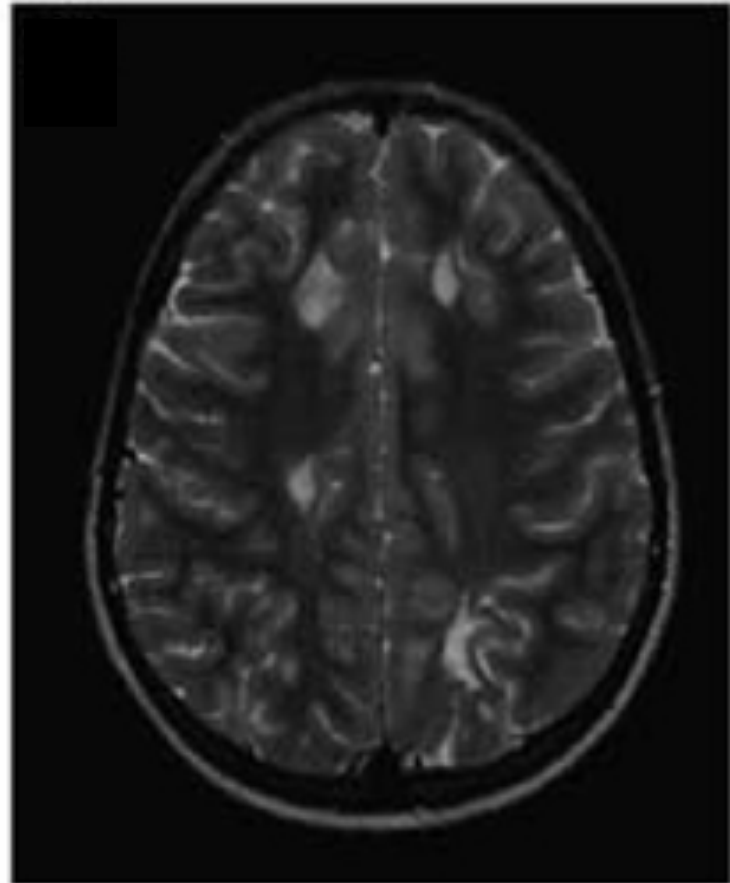
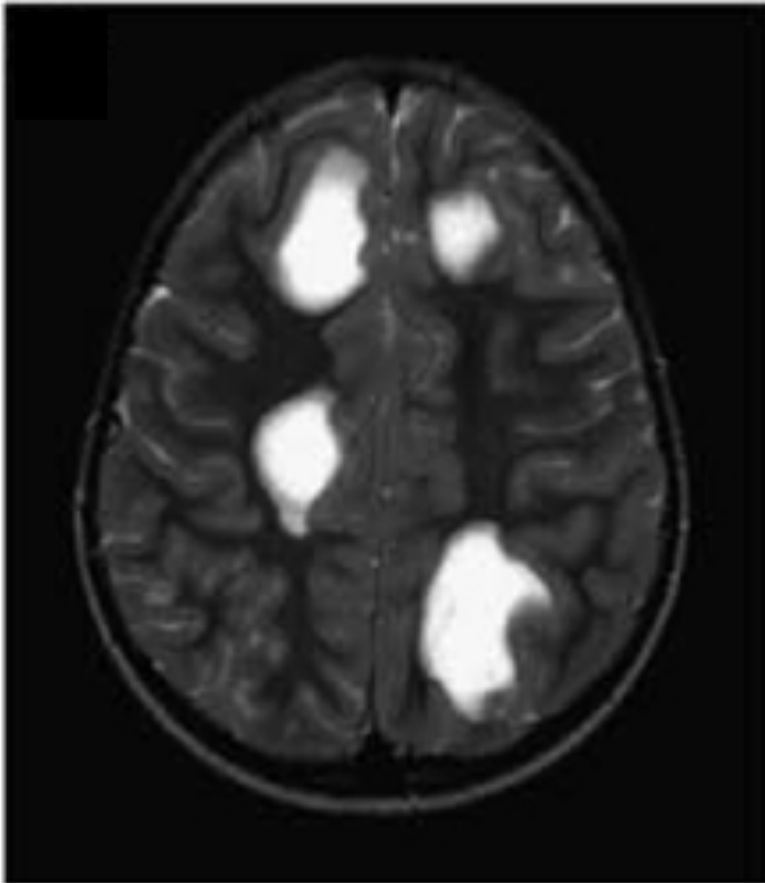
CSF	Användning	Tillstånd
Leukocyter/ celltyp	Måttlig vid neuroinflammation FACS ökar sensitivitet	Infektion, inflammation, malignitet
Glukos	-	Infektion
Laktat	-	Infektion
Erythrocyter	Oftast stickblödning Ses vid nekrotiserande sjuk	Blödning
Albumin	BBB-skada	Infektion, inflammation
IgG-index	BBB-skada eller intrathecal produktion	Inflammation
IgM-index (IgA-index)	BBB-skada eller intrathecal produktion	Dåligt validerat som biomarkör
OCB	Intrathecal produktion	Infektion, inflammation <i>Speglade band svårtolkade</i>
Tryck	Ospecifikt	-

Imaging-tekniker

- **MRI** central biomarkör för neuroinflammation
- Varierande sensitivitet, låg specificitet för specifika tillstånd
- Gd-laddning tyder på BBB-skada men eg. ej neuroinflammation
- Flertal olika MR-modaliteter tros kunna vara markörer för irreversibel skada
 - Atrofi, T1 hypointensitet, Spektroskopi, DTI m.fl.
- **PET** med [^{11}C]-PK11195-ligand lovande men ej validerat

Kan ge en bättre *in vivo*-bild av inflammatorisk aktivitet

MR som biomarkör

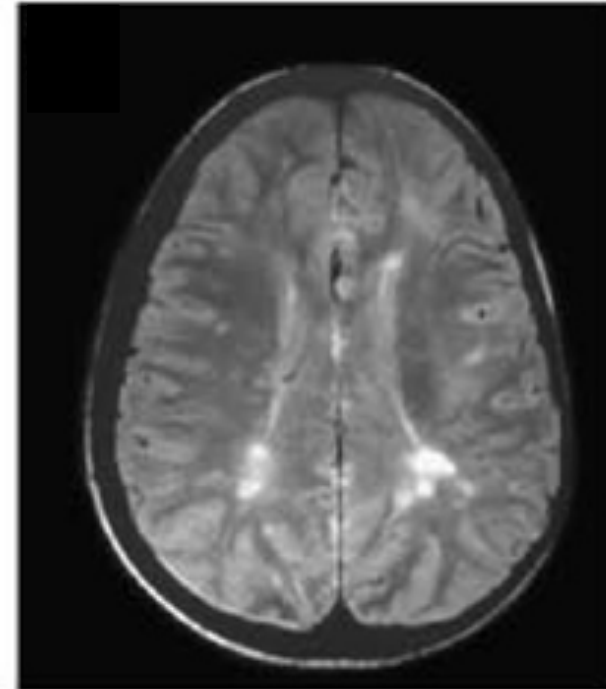
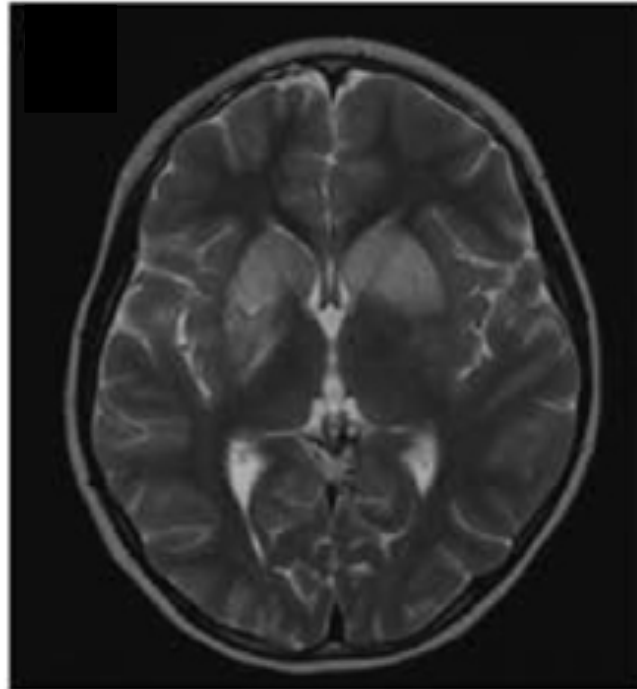
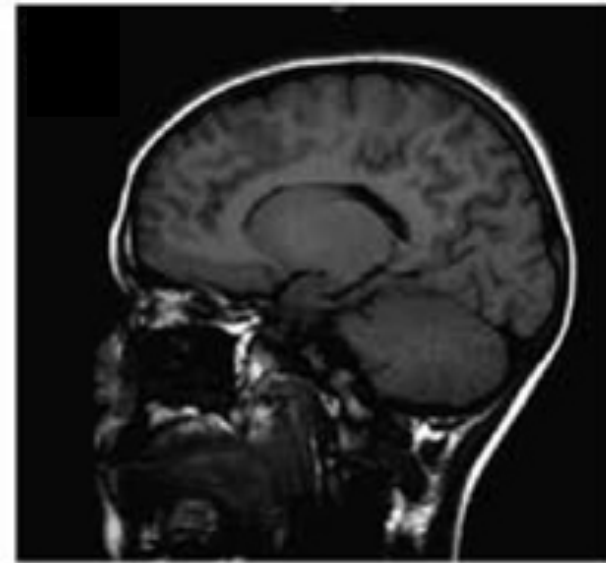
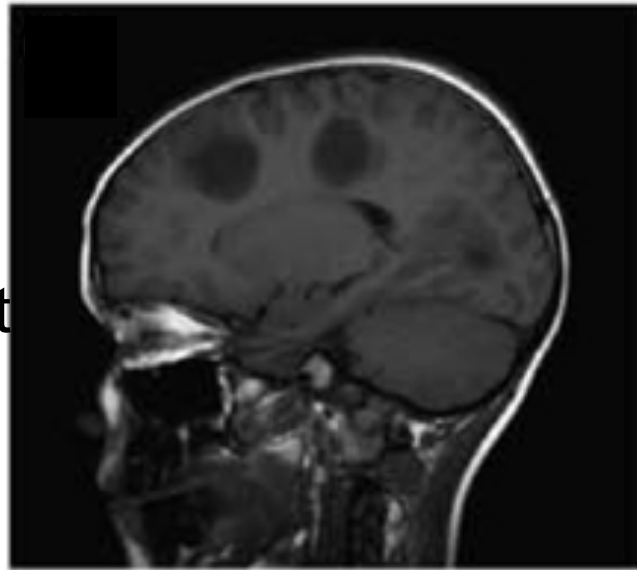


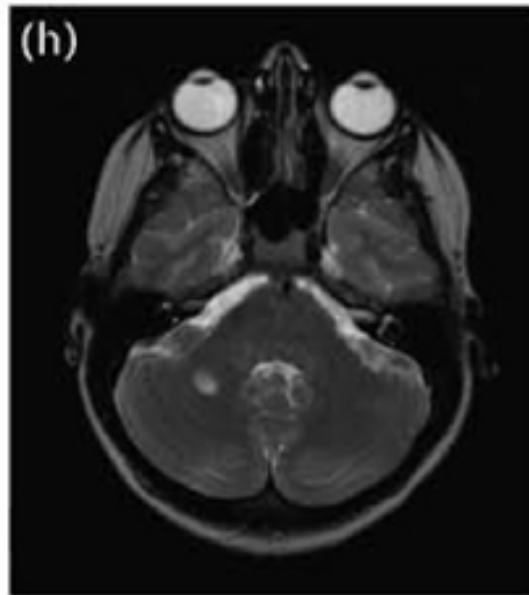
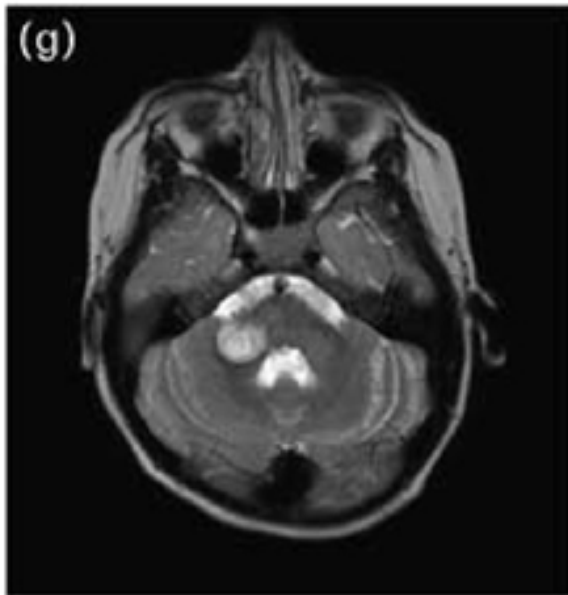
Pojke 5 år gammal, +5 år

ADEM vs. MS

1. Ej diffust bilateralt
2. Svarta T1-hål
3. >2 peri-ventrikulära lesioner

81% sensitivitet
95% specificitet

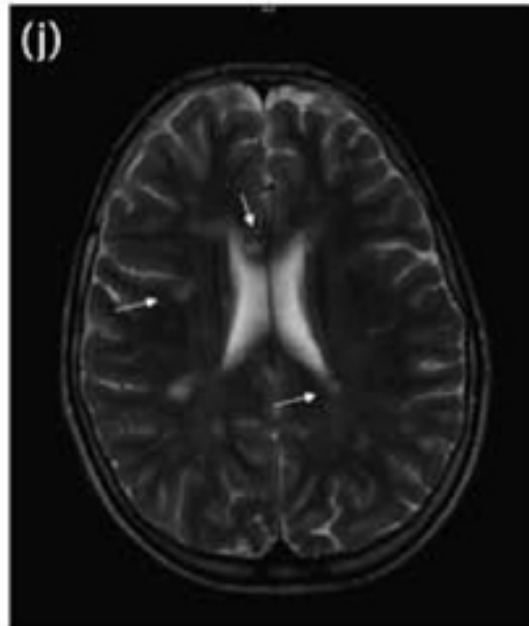
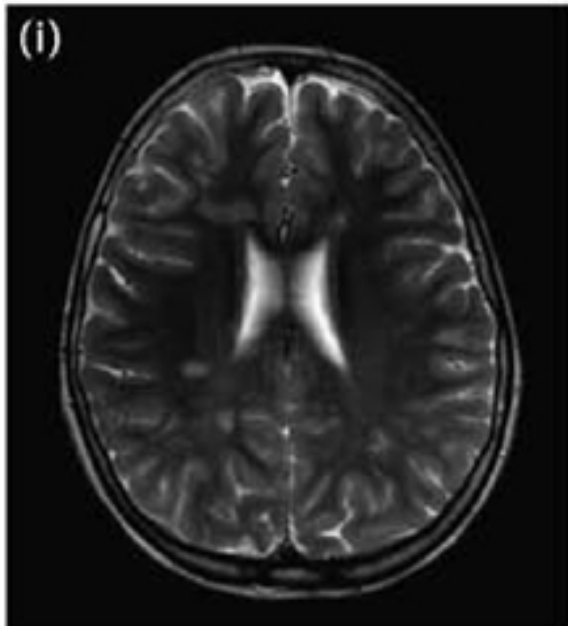




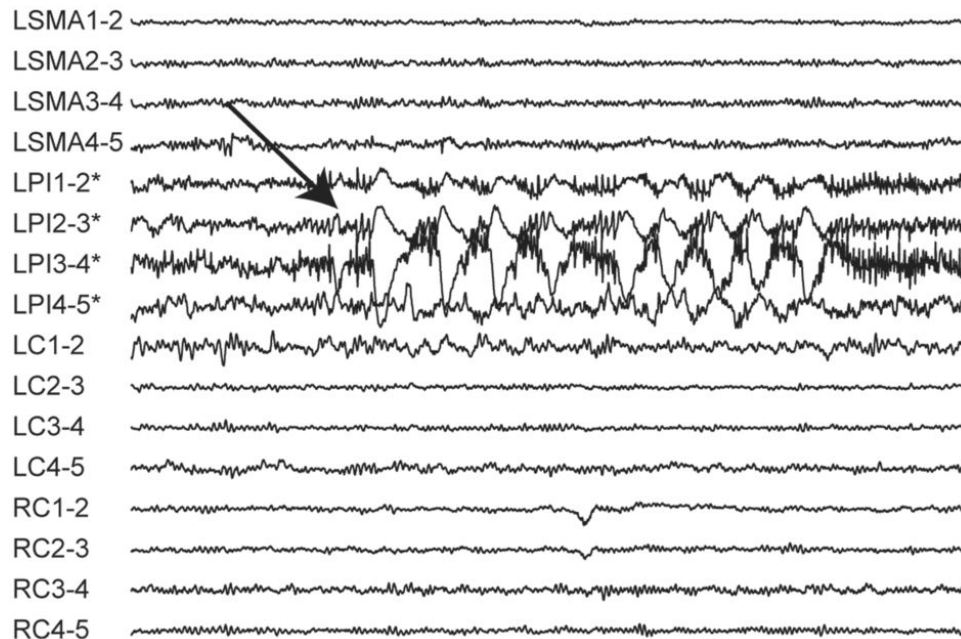
MR vid MS

CIS ger MS hos 45%

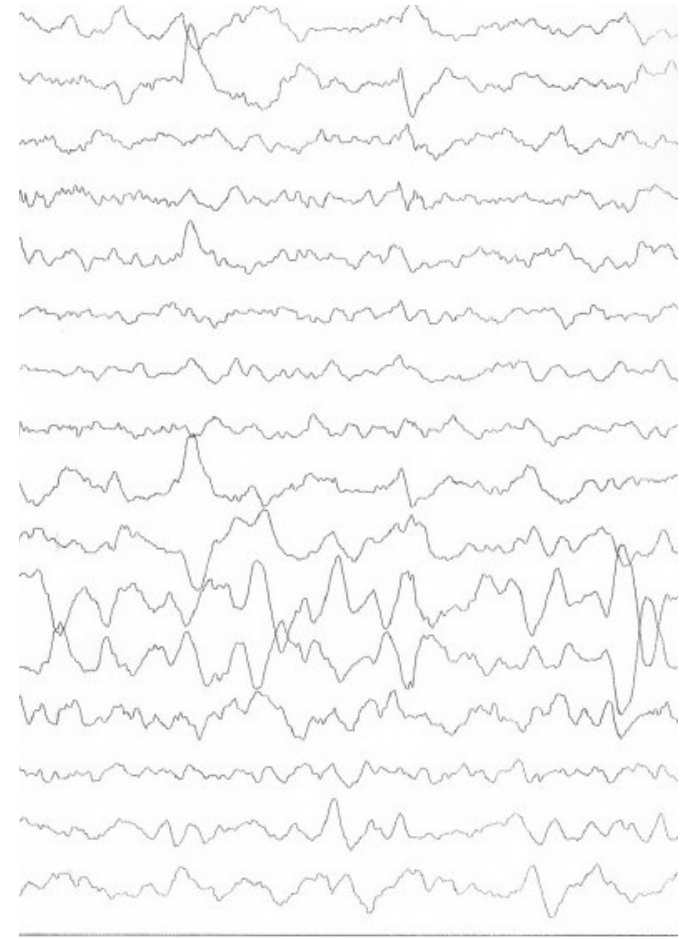
Högre risk om stora
lesioner eller i
hjärnstam



EEG är användbar som biomarkör vid olika typer av encefaliter

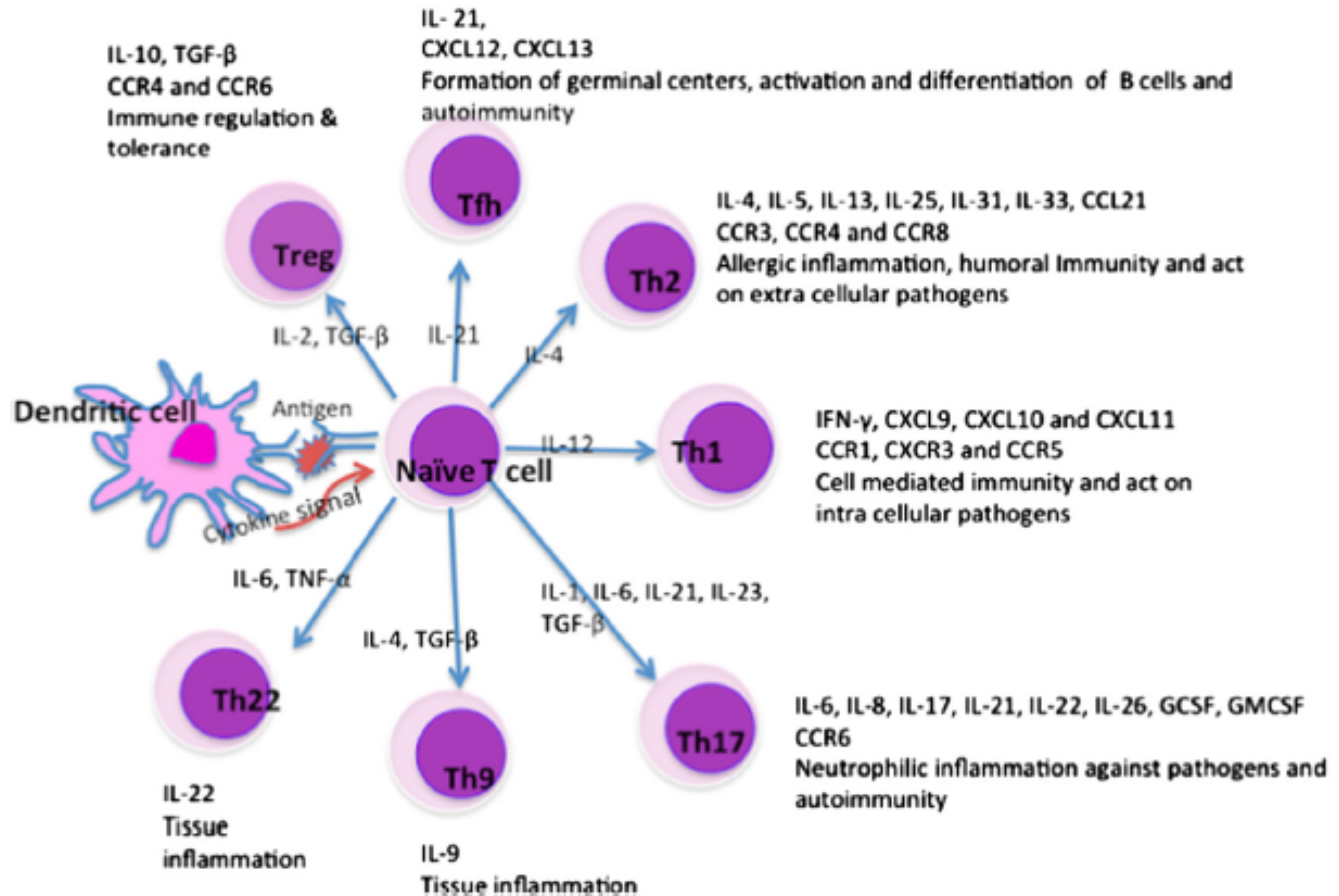


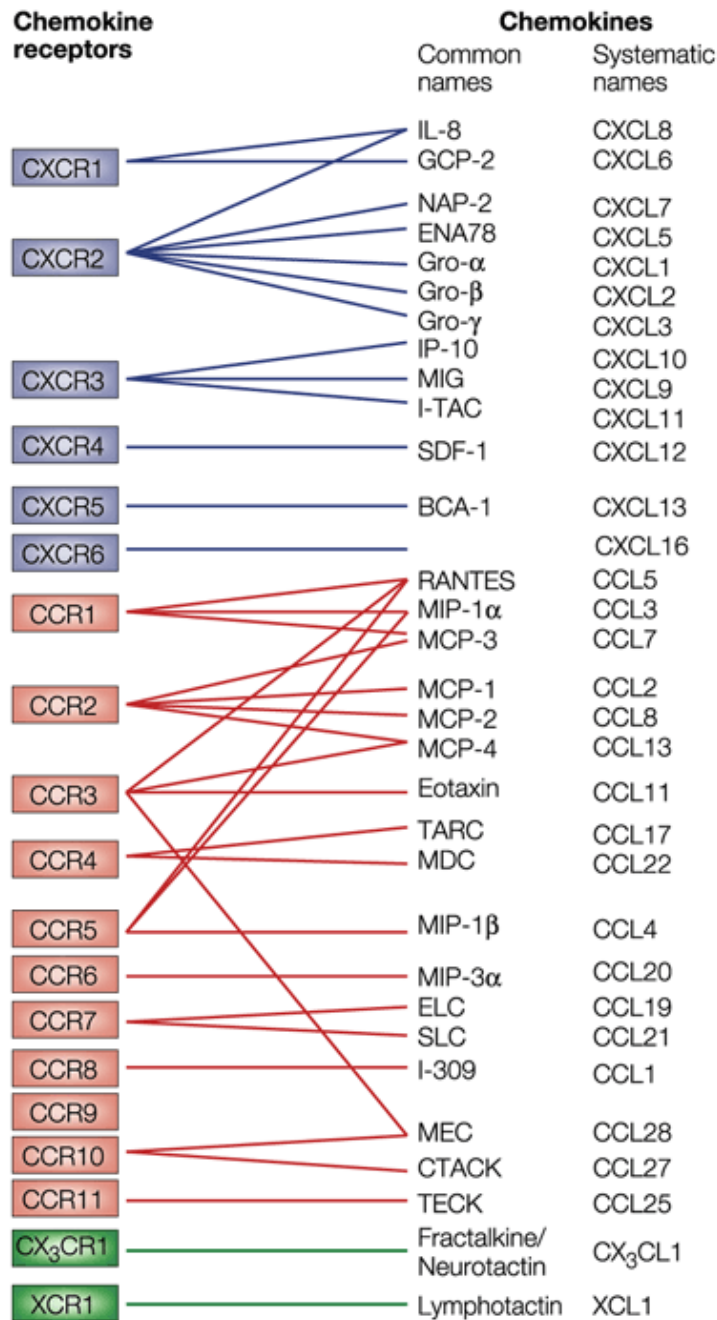
Extreme delta brushes vid anti-NMDA-encefalit



Cytokiner

- Biologiskt aktiva LMW polypeptider
- Karakteriserar T-cellspopulationer

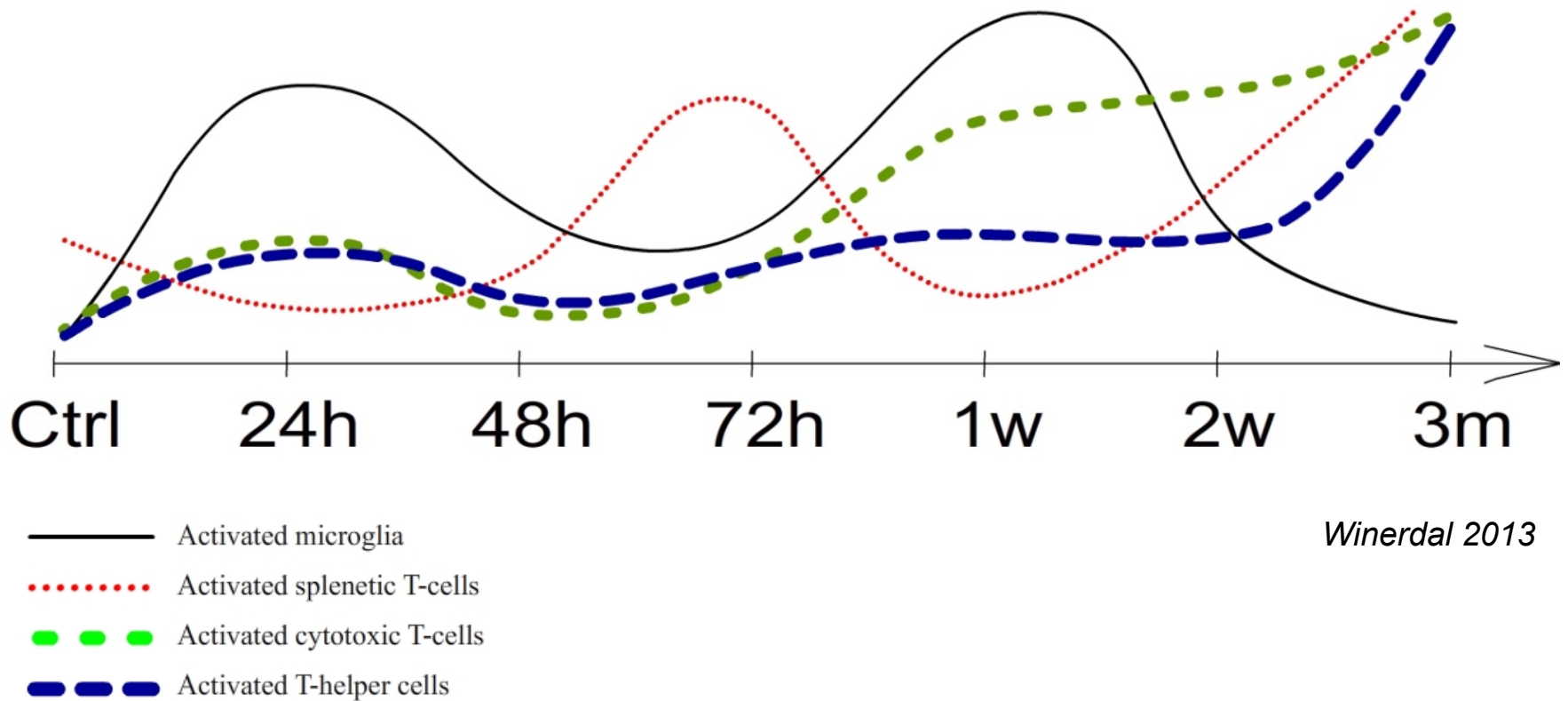




Kemokiner

- Små proteiner (8-14kDa)
- Centrala för rekrytering av leukocyter och andra celler in i CNS
- Vissa uttrycks även konstitutivt i lymfoid vävnad, men generellt hög specificitet för inflammation i CNS

Temporal activation of immune cells



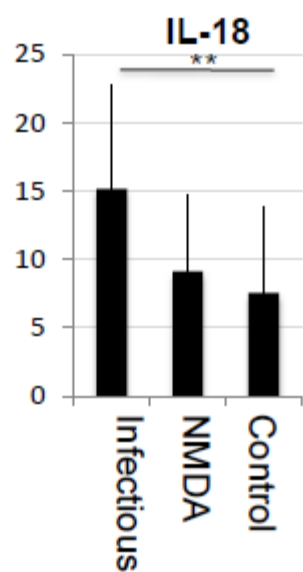
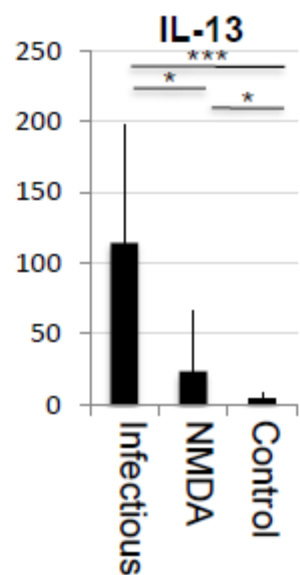
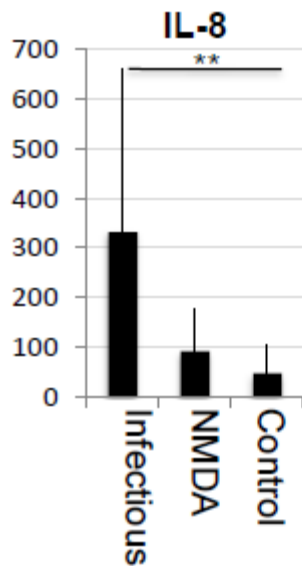
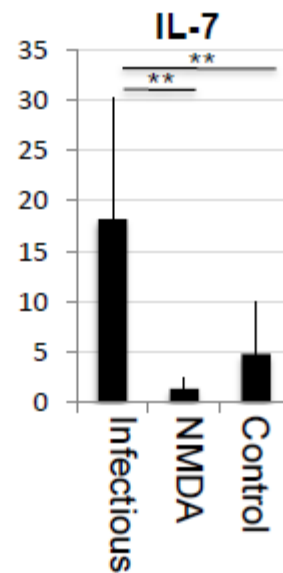
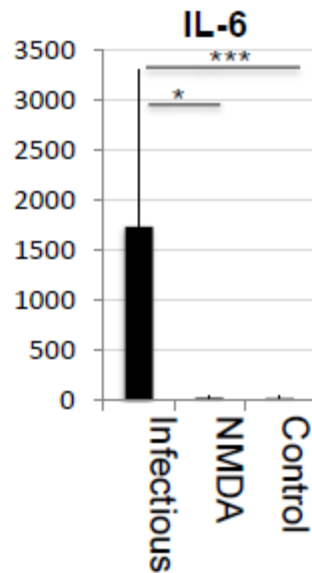
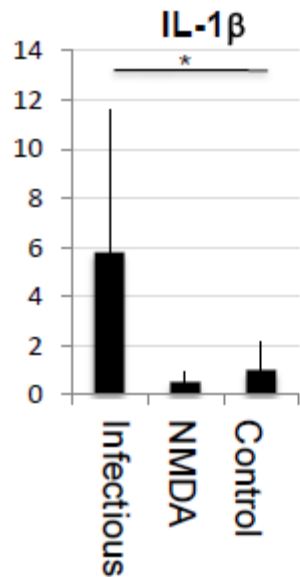
Winerdal 2013

Cytokines/chemokines	Cytokines/chemokines (pg/ml)	
	Range	Mean
TNF- α	0-7.5	2.1
IL-2	0.7-9.96	0.9
IFN- γ	0-36.84	6.8
IL-12	0.4	0.4
MIG (CXCL9)/MIG	3	3
IP-10/CXCL10	45.5-1299	605.1
CXCL11	7	7
IL-4	0-3	1
IL-5	0.46	0.5
IL-13	0-15.13	4.8
Eotaxin/CCL11	0-13.12	6.3
CCL17	7.2-9.2	8.2
CCL21	2.9	2.9
IL-10	0-29	5.3
TGF- β	74 (ng/ml)	74
IL-6	1.35-15	6.2
IL-17	0-3.72	1.6
IL-8 (CXCL8)	5.4-59	32.3
G-CSF	0-50	17.3
CXCL12	28.2-1263	645.6
CXCL13	0-38.51	10.3
CCL19	118	118
APRIL	455-995.9	725.5
BAFF	124.1-486.3	203.5
IL-1ra	0-17	10.8
IL-1 β	0.24-3.9	1.6
IL-12p40	2.1-12	7.1
IFN- α	0-17.4	6.1
CXCL 1(GRO alpha)	10.0-26	19.3
MCP-1/CCL2	136-819.1	381.1
MIP-1 α /CCL3	0.48-6.4	4.4
MIP-1 β /CCL4	4-27.38	12.1
RANTES/CCL5	2.1-3.16	2.7
G-MCF	2-339.6	131.5
IL-12 (p70)	0.42-1.05	0.8

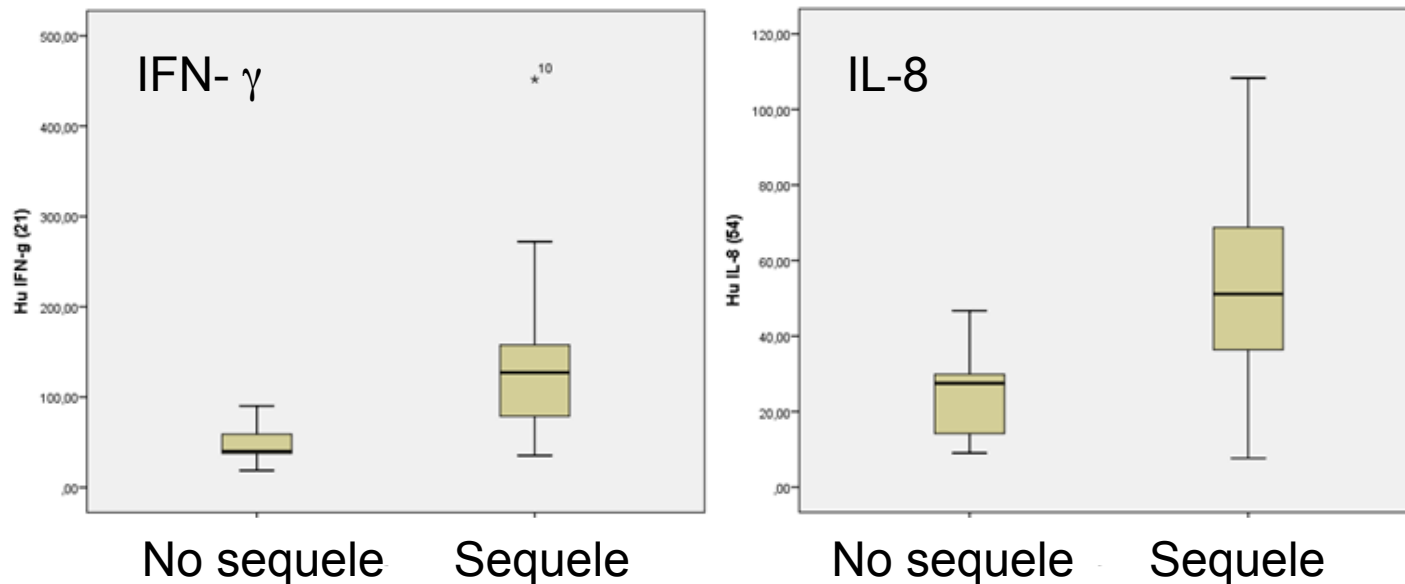
Referensnivåer för cytokiner och kemokiner

Gäller hos vuxna

Cytokiner kan differentiera mellan virala och autoimmuna encefaliter



Cytokiner predicerar även långtids-outcome



**TBE in children, follow-up 8 years
CSF from day 1**

Cytokiner och kemokiner i praktiken

	Funktion	Tolkning
IL1β	Pro-inflammatorisk	↑ Autoinflammatorisk sjuk, infektion
IL6	Pro- och anti-inflammatorisk	↑ Infektion, brännskador, trauma
IL8 (CXCL8)	Kemotaxis, inducerar fagocytos	↑ Infektion (neutrofiler), oxidativ stress
IL10	Anti-inflammatorisk	↓ nivåer vid autoinflammation inkl MS
CXCL13	<i>“B cell-attracting chemokine 1 (BCA-1)”</i>	↑ Autoinflammatorisk sjuk som involverar B-celler
TNF-α	Pro-inflammatorisk	↑ Sepsis, infektion, Autoinflammatorisk sjuk

Cytokiner och kemokiner degenererar snabbt!

Neuronala autoantikroppar

Indikation: misstanke om autoimmun paraneoplastisk eller limbisk encefalit samt i utredning av epilepsi.

Panel Karolinska:

NMDAR, VGKC (LGI1, CASPR2), AMPAR, GABA(B) samt antikroppar mot Hu, Yo, Ri, Ma2/Ta, CV2, Amphiphysin, Recoverin, SOX1, Titin, Zic4, GAD65 och Tr.

Paraneoplastiska syndrom och Limbisk encefalit

Antikroppar mot Amphiphysin, CV2/CRMP5, Hu, Ma, Ri, Yo, GAD, AMPAR 1, AMPAR 2, CASPR2, GABA B R, LGI-1, NMDA receptor, VGKC

Analyseras i serum och likvor. Serum rekommenderas i första hand, likvor kan användas vid uppföljning om serum ger negativt resultat. Anti-NMDA receptor antikroppar kan vid sällsynta fall enbart detekteras i likvor.

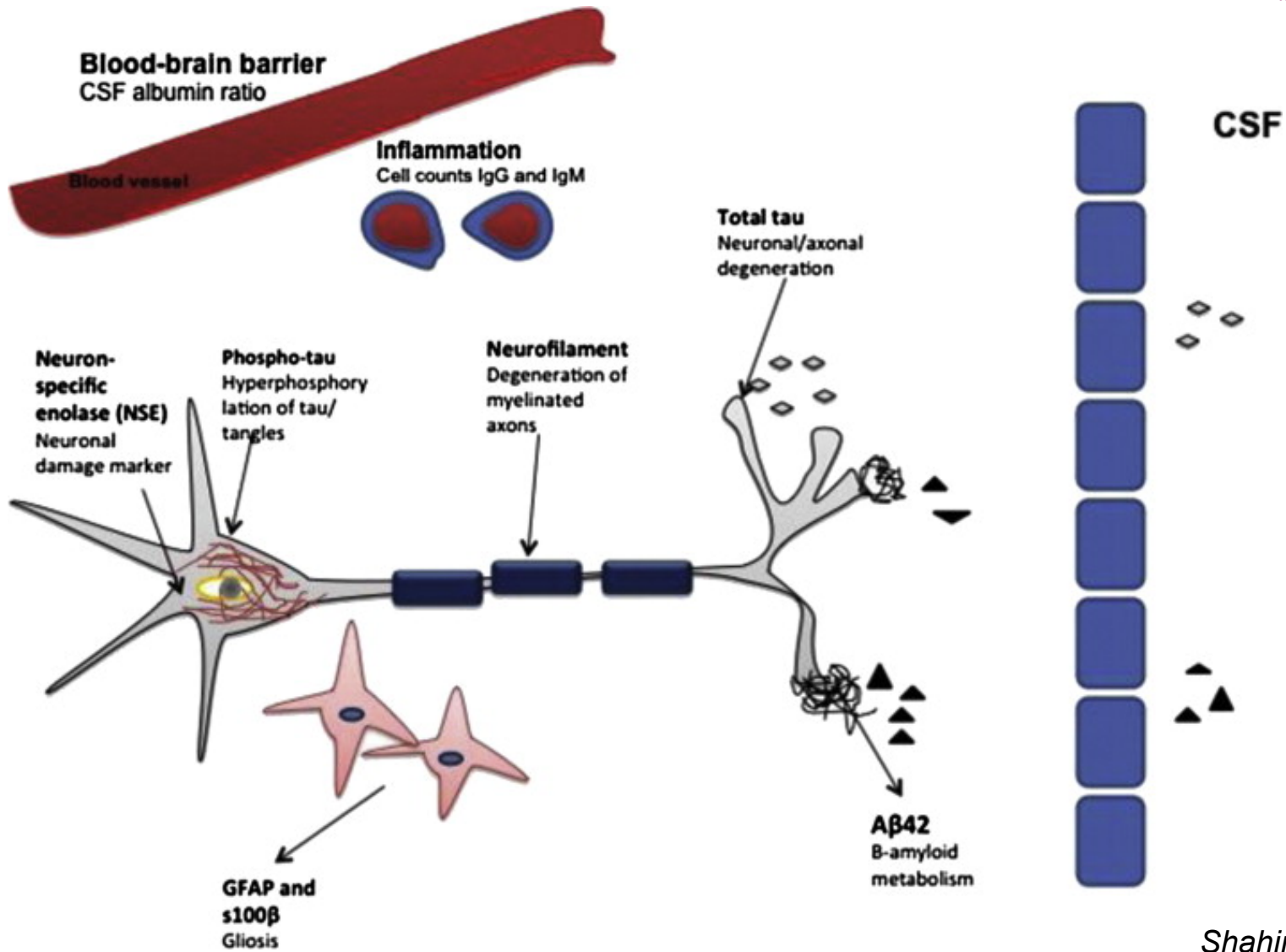
Wieslab

Neuronala autoantikroppar

	Funktion	Tillstånd
MOG	<p>Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Involverat i myelinisering, leder därmed till vitsubstansskada</p>	<p>MS (20%) ADEM (25-50%) NMO (AQP4-negativ) Adrenoleukodystrofi</p>
MBP	<p>Myelin Basic Protein Ca 30% av myelinprotein</p>	<p>MS ADEM Specificitet oklar</p>
AQP-4	<p>Aquaporin-4 Konstitutivt uttryckt i celler och vattenreglerar Finns i astrocyter. Ak orsakar komplementaktivering och inflammation</p>	<p>NMO</p>

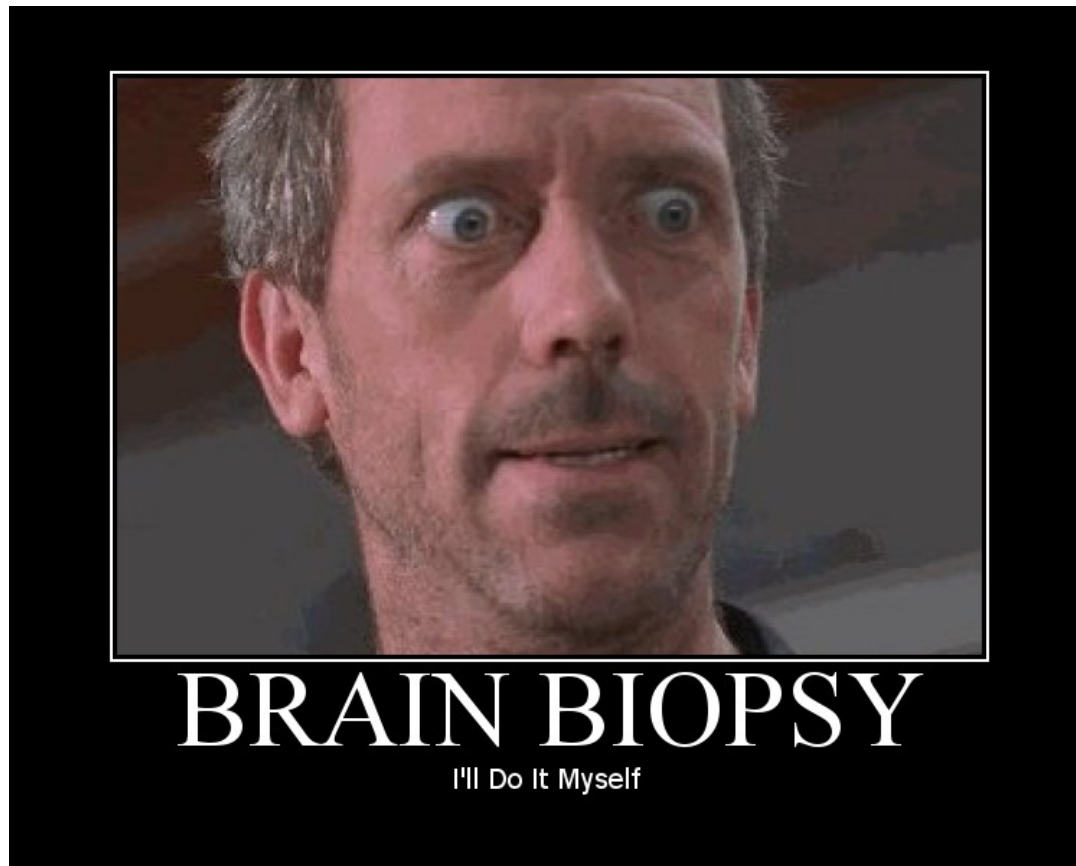
Skademarkörer i CNS

	Funktion	Relevans	Tillstånd
Tau (total)	Stabiliserar kortikala axon	Förhöjt vid kortikal skada <i>OBS förhöjt under första levnadsåret</i>	Leukemi, CNS-tumörer, kemoterapi, lysosomala sjd, HC, epilepsi
Neuro-filament light (NFL)	Finns i myeliniserade axon	Förhöjt vid axonal skada	MS, CNS-LCH, Borrelia Leukodystrofier
Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP)	Uttrycks i astrocyter och ependymala celler	Förhöjt vid astrocytos/glios	MS, ADEM, ALL, ep
S100β	Stimulerar astrocyter och neuron	Förhöjt vid astrocytos/glios	TBI, ALL, kemoterapi, ep Malaria (andra infektioner?)
Neuron-specifikt enolas (NSE)		Neuronal skada	TBI, ep



Shahim et al 2013

Vid atypisk neuroinflammation och oklar diagnos...



Biomarkörer vid olika neurologiska tillstånd

Infektiös encefalit	
Autoimmun encefalit	
Demyeliniserande sjukdom i CNS	Akut disseminerad encefalomyelit (ADEM)
	Kliniskt isolerat syndrom (CIS)
	Neuromyelitis optica (NMO)
	Multipel skleros (MS)

Viral encefalit

Biomarkör	Förändring	Anmärkning
CSF -analyser	Pleocytos (60%) Ev csf-protein ↑ Övriga parametrar opåverkade	<i>Oftast mononukleär, tidigt prov, influenza och enterovirus ger polycytär pleocytos</i>
MR	Variabelt	
EEG	Långsam aktivitet	<i>Hög sensitivitet</i>
Cytokiner och kemokiner	IL1, IL6 , IL8, IL13 ↑	
Virusdetektion	CSF (biopsi) eller ak	
Skademarkörer	Tau, p-Tau, NSE förhöjda vid nekrotiserande sjd	<i>Korrelerar dåligt med outcome vid mild sjukdom</i>

Autoimmun encefalit

Biomarkör	Förändring	Anmärkning
CSF -analyser	OCB vanligt (80% NMDA) OCB även vid Rasmussen	<i>Speglade OCB vid NMDA</i>
MR	Vanligen avvikande	
EEG	Encefalitbild Extreme delta brushes	
Cytokiner och kemokiner	Normala	
Neuronala antikroppar	Neuronala antikroppar i CSF eller blod	

ADEM

Biomarkör	Förändring	Anmärkning
CSF -analyser	Lätt pleo och albumin ↑ (50%) OCB ovanligt (0-10%)	
MR	Stora diffusa lesioner T2+FLAIR i vitsubstans (10-20% kortikalt). Diffusa, icke symmetriska .	Kontrollera även rygg
EEG	Vanligen avvikande men variabel bild, ofta långsam bakgrund med spikes	
Cytokiner och kemokiner	-	-
Antikroppar	OCB upp till 30% MOG pos 25-50%	

NMO

Biomarkör	Förändring	Anmärkning
CSF -analyser	Oligoklonala band i upp till 20% FACS visar ökad fraktion b-celler	
MR	Longitudinell transversell myelit (>3 kotor)	
Cytokiner och kemokiner	-	
Neuronala antikroppar	AQP-4-IgG-ak ses hos 60-90% och hög specificitet	
Skademarkörer	GFAP ↑	

Multipel Skleros

Biomarkör	Förändring	Anmärkning
CSF -analyser	Celler ofta normala, protein ofta lätt ↑ OCB 85-90%	<i>OCB förekommer vid CIS men vanligen ej vid ON</i>
MR	Hyperintensitet Gd+ indikerar aktivitet	Svarta hål indikerar långtids-påverkan och diffar MS från ADEM
Cytokiner och kemokiner	IL6, CXCL13 ↑ IL4, IL10 ↓	
Neuronala antikroppar	MOG (pos upp till 20%)	<i>Bör gå ner mellan skov annars indikation på aktivitet. Bättre hos barn än hos vuxna.</i>
Skademarkörer	NFL	<i>förhöjda vid skov, prognostiska och behandlingsresponsiva Övriga skademarkörer fr.a. Vid SPMS</i>